‘贵长’猕猴桃叶片高效直接再生体系的建立

赵许朋，赵晓朋，施豪，陈学梅，姜婷，刘燕*

（贵阳学院，贵州贵阳 550005）

摘　要：以‘贵长’猕猴桃叶片为外植体，直接脱分化产生不定芽，并对不定芽增殖以及生根体系进行优化，建立了其高效直接再生体系。结果表明，叶片在 MS+4.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA 培养基中，不定芽诱导率达 95.8 %，平均出芽数达 15.7 个/叶片；不定芽在 MS+3.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA+0.2 mg/L GA_3 培养基中，增殖率达 100 %，且 1～6 代平均繁殖系数达 8.15；不定芽先在添加 1.0 mg/L IBA 的 1/2 MS 固体培养基中诱导 7 d，然后再先后在 1/2 MS 固体培养基和充分吸附 1/2 MS 培养液的珍珠岩中各培养 14 d，生根率达 98.61 %，且根系发育良好；50 株试管苗移栽到以珍珠岩和田间土壤（其体积比为 1:4）为基质的营养钵中，2 周后成活 49 株，成活率达 98 %。该研究成功建立了‘贵长’猕猴桃叶片高效再生体系，该方法不定芽诱导周期短，出芽率高且数目多，不定芽增殖系数大，生根率高且试管苗根系发达，为‘贵长’猕猴桃离体快速繁殖和遗传转化奠定了基础。

关键词：‘贵长’猕猴桃，叶片，不定芽，植株再生

Establishment of High Frequency Regeneration via Leaf Explants of ‘Guichang’ Kiwifruit (*Actinidia chinensis*)

ZHAO Xu-peng, ZHAO Xiao-peng, SHI Hao, CHEN Xue-mei, JIANG Ting, LIU Yan *

（Guiyang University, Guizhou Guiyang 550005, China）

Abstract: A high efficient in vitro regeneration system was developed from leaf explants of ‘Guichang’ Kiwifruit (*Actinidia chinensis*) and the multiplication coefficient and rooting rate of adventitious buds was also optimized. Results revealed that the adventitious buds developing

---

第一作者简介：赵许朋（1982-），男，博士，主要从植物生物技术研究。E-mail：(zhaoxupeng666@163.com)。

基金项目：贵州省教育厅重点项目（黔教合 KY 字[2015]382 号）；贵州省科技厅联合基金项目（黔科合 LH 字[2015]7310 号）；贵州省一流大学建设项目：一流师资队伍—生物学教学团队（2017158322）；贵州省大学生创新创业训练计划一般项目（编号：201610976005）

*通讯作者，电子邮箱：gyly68@sina.com

directly from leaf explants were noticed after 30 d of culture. The maximum regeneration frequency of adventitious buds is 95.8 % and 15.7 shoots was observed in each leaf explants when MS medium was supplemented with 4.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA. The optimal culture medium for bud proliferation is MS+3.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA+0.2 mg/L GA_3 and the proliferation coefficient reached 8.15 in every subculture during 1 to 6 subcultures. On the rooting medium with 1/2 MS+1.0 mg/L IBA for 15 d, the adventitious plantlets were successively transferred into agar power and matrix perlite supplied with 1/2 MS liquid medium for 15 d and 95.83 % of them rooted and the roots were also heavy and strong very much. 49 out of 50 plantlets (99 %) survived acclimatization in the greenhouse after transplanting them to the Mixed matrix of pearlite and soil（1:4）for two weeks. In conclusion, a highly efficient regeneration protocol via leaf explants of ‘Guichang’ Kiwifruit was successfully established and it may provide theoretical and technical guidance for micropropagation and genetic transformation studies of ‘Guichang’ kiwifruit.

Key words: ‘Guichang’ kiwifruit (*Actinidia chinensis*), leaves, adventitious buds, plant regeneration

猕猴桃是猕猴桃科（*Actinidiaceae* Hutch）猕猴桃属（*Actinidia* Lindl.）多年生藤本果树，在我国发现最早，其种群数量、分布范围均为世界之首，故有“猕猴桃故乡”之称[1]。猕猴桃果实富含维生素 C、多种矿质元素及膳食纤维，有“水果之王”的美誉[2]。‘贵长’猕猴桃系中华猕猴桃优良品种[3]，是贵州省培育出的猕猴桃新品种，1990 年开始在黔北地区引进，其单果重可高达 130 g，含糖量可高达 15 %，其果实富含维生素 C、胡萝卜素以及铁、锌等微量元素，清香爽口，酸甜适度，具有肉质甜、香气浓、耐贮藏等优点，深受消费者喜爱，不仅如此，该品种在生产上也表现出很好的丰产性能，具有良好的经济效益和应用前景[3]。2011 年 9 月‘贵长’猕猴桃被国家质检总局发布认定为国家地理标志保护产品[4]。然而，猕猴桃雌雄异株，种子繁殖易造成良种退化[5]，故限制了良种推广[6]。同时，猕猴桃在栽培过程中容易发生溃疡病等病害[7]，每年因溃疡病等造成的减产高达 20 %[8]。

植物组织培养技术，具有克服有性繁殖造成的品种退化和实现苗木大量繁殖的特点

[9-12]；此外，高效稳定的再生体系还是植物基因工程育种的基础[13-14]，而植物基因工程育种可为植物病害防治提供一条新的路径[15]。在植物组培中，外植体可经愈伤组织诱导和不定芽分化产生再生芽[16]，也可由外植体不经愈伤组织直接再生不定芽[17]。前者分化不定芽周期长，且易发生变异；后者分化不定芽周期短，变异率低，是良好的植株再生及遗传转化体系[18]。目前，关于猕猴桃离体繁殖已有一些报道[19-20]，但直接再生的研究较少、再生频率较低[21]，而关于‘贵长’猕猴桃的离体再生尚无报道。本试验以‘贵长’猕猴桃叶片为外植体，建立高效直接再生体系，为其离体快繁及抗病基因工程育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料为‘贵长’猕猴桃（*Actinidia chinensis* cv.‘Guichang’）幼嫩叶片，采集于贵州修文谷堡乡猕猴桃基地。

1.2 实验方法

1.2.1 叶片外植体的获得

取‘贵长’猕猴桃叶片，洗净，用 75 %乙醇消毒 40 s，然后再用 0.1 % $HgCl_2$ 消毒 9 min，用无菌水冲洗 3～4 次，修剪（约 1 cm×1 cm），备用。

1.2.2 诱导不定芽

将“1.2.1”中得到的外植体接种至含有不同配比植物生长调节剂的培养基上，预培养（暗培养）28 d，然后转入光照条件下，继续培养 14 d 后统计不定芽数量和诱导率。

1.2.3 不定芽增殖培养

选取长 0.5～0.8 cm 左右的不定芽，接种至不定芽增殖培养基上，42 d 后统计不定芽数目，并按照增殖后芽个数/接种芽数的比例关系计算增殖系数；并对不定芽 1～6 代的增殖情况进行了研究。

1.2.4 不定芽生根培养

选取长 2～3 cm 的新生芽，接种至含有 IBA 的 1/2 MS 固体培养基中（表 3），预培养 7 d，然后将经过预培养的不定芽转移至 1/2 MS 固体培养基中进行生根培养，14 d 后统计生根率、平均根数（根总数/接种芽数）、平均根长（根总长度/根总数）。然后将无菌苗（含

有根系）转入以珍珠岩为基质的 1/2 MS 培养基中促进根系发育，14 d 后检查根系发育状况并用于移栽。

1.2.5 组培苗移栽

对根系发育良好的组培苗进行炼苗，采用逐渐打开组培瓶瓶盖的方式炼苗 1 周，取出组培苗，洗净其根系，然后移栽至装有珍珠岩和田间土壤（体积比为 1：4）的培养钵中，每天适量浇水，14 d 后统计移栽成活率。

本试验均在无菌条件下进行，MS 或 1/2 MS 培养基（添加琼脂 8 g/L，蔗糖 30 g/L，pH 5.85）；光照：4 500 lx（16 h/d），温度：（25±2）℃。不定芽分化培养基见表 1；不定芽增殖培养基见表 2，生根培养基见表 3，以上每种培养基均设置三次重复。不定芽诱导的前 28 d 为暗培养，其余阶段为光照培养。

2 结果与分析

2.1 植物生长调节剂对叶片不定芽再生的影响

叶片接种后，14 d 左右叶脉开始膨大，切口部位开始萌动，叶脉切口处分化最为明显，并伴有微量愈伤组织分化（图 1）；21 d 左右出现芽点，28 天左右有明显的叶点分化，呈黄色（图 2），可能是由于暗培养条件下叶片无法合成足够的叶绿素的原因；暗培养 28 天后，转入光照下培养，不定芽继续分化并迅速伸长，14 d 后统计结果，芽点由黄色发育为浅绿色（图 3）；统计结果显示，经过分化培养，A_5、A_8 培养基分化率最高，达到 95.8 %，然而，与 A_6（83.3 %）、A_9（87.5 %）无显著差异（P≤0.05）（表 1）；但是，从平均芽数来分析，A_5、A_6、A_8、A_9 培养基的平均芽数分别为 15.7、10.3、11.3、10.0 个/叶片，显然，

表 1 植物生长调节剂对‘贵长’猕猴桃叶片分化不定芽的影响

Table 1 Effects of plant growth regulators on dedifferentiation of buds from leaves of ‘Gui chang’ Kiwifruit

编号 No.	植物生长调节剂/mg/L Plant growth regulators	接种外植体数 No. of leaves	出芽叶片数(个) Explants No. of buds formation	出芽率/% Induction rate of adventitious buds	平均芽长/cm Average No.of buds
A_1	6-BA 3.0+NAA 0.2	24	9.3±0.88d	37.5±4.17f	3.7±0.33d
A_2	6-BA 4.0+NAA 0.2	24	10.7±1.20d	45.8±6.36ef	7.3±0.67c
A_3	6-BA 5.0+NAA 0.2	24	15.0±2.08c	62.5±8.67de	4.3±0.67d
A_4	6-BA 3.0+NAA 0.4	24	16.0±1.73bc	66.7±7.22cd	10.7±1.45b
A_5	6-BA 4.0+NAA 0.4	24	23.0±1.00a	95.8±4.17a	15.7±0.88a

A_6	6-BA 5.0+NAA 0.4	24	19.7±1.20ab	83.3±4.17abc	10.3±0.88b
A_7	6-BA 3.0+NAA 0.6	24	16.3±1.76bc	70.8±4.81bcd	11.0±1.25b
A_8	6-BA 4.0+NAA 0.6	24	23.0±0.58a	95.8±2.41a	11.3±1.20b
A_9	6-BA 5.0+NAA 0.6	24	21.0±1.53a	87.5±6.36ab	10.0±0.58bc

A_5培养基平均芽数最多，方差分析显示A_5培养基与其它培养基有显著差异。因此，在本研究中，'贵长'猕猴桃叶片再生不定芽的最佳培养基为A_5，即MS+4.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA。

2.2 植物生长调节剂对不定芽增殖的影响

将新分化的不定芽接种至不同的增殖培养基中进行增殖培养，14 d左右开始有新芽点萌动，其中B_2、B_3、B_6增殖效果最好，增殖率高达100 %，B_4培养基最差，增殖率为61.1 %，但是方差分析显示B_2、B_3、B_5和B_6增殖率无显著差异（$P \leqslant 0.05$），说明'贵长'猕猴桃不定芽在一定配比的6-BA和NAA刺激下，较容易发生增殖现象，且增殖效果良好；为了促进新生芽的快速生长，在增殖培养基中添加了一定浓度的GA_3，经过一段时间的培育，新生芽迅速生长并呈现簇生状（图4）（表2），不定芽长度在2 cm以上，且茎叶分化明显，有利于单株的分离及后期不定根的诱导。在研究过程中，作者还对新增殖不定芽进行了继代增殖研究，对实验结果进行统计分析表明（表2），在不同增殖培养基中，B_2培养基1～6代平均增殖系数最高（8.15），与其它培养基配方差异显著（$P \leqslant 0.05$），且不定芽生长旺盛（图4）。因此，在本研究中，B_2培养基，即MS+3.0 mg/L6-BA＋0.3 mg/L NAA＋0.2 mg/L GA_3为'贵长'猕猴桃不定芽增殖的最佳培养基。

表2　植物生长调节剂浓度'贵长'猕猴桃不定芽增殖的影响

Table 2　Effects of plant growth regulators on multiplication of adventitious buds of 'Gui chang' Kiwifruit

编号 No.	植物生长调节剂/mg/L Plant growth regulators	增殖率/% Multiplied rate/%	各代繁殖系数/倍 Propagation coefficients in clonal generations /Times						平均增殖倍数 Average multiplied times
			1	2	3	4	5	6	
B_1	6-BA 2.0+NAA 0.3+GA_3 0.2	73.6±3.67b	2.11	2.07	2.00	1.89	1.88	1.97	1.99±0.03e
B_2	6-BA 3.0+NAA 0.3+GA_3 0.2	100±0.00a	8.14	8.22	8.17	8.29	8.03	8.03	8.15±0.04a
B_3	6-BA 4.0+NAA 0.3+GA_3 0.2	100±0.00a	5.36	5.40	5.38	5.44	5.25	5.23	5.34±0.03d
B_4	6-BA 2.0+NAA 0.6+GA_3 0.2	61.1±3.67b	1.76	1.79	1.72	1.86	1.78	1.76	1.78±0.02f
B_5	6-BA 3.0+NAA 0.6+GA_3 0.2	95.8±2.41a	5.68	5.67	5.53	5.75	5.60	5.60	5.64±0.03c
B_6	6-BA 4.0+NAA 0.6+GA_3 0.2	100±0.00a	6.21	6.22	6.06	6.19	5.97	6.14	6.13±0.04b

2.3 不定芽生根与试管苗移栽

用含有不同浓度 IBA 的 1/2 MS 固体培养基（表 3）进行刺激，然后将经过生根刺激的无菌苗转移至 1/2 MS 固体培养基中进行生根，最后转入壮根培养基中进行新生根系增殖。经过 IBA 刺激的不定芽迅速生根，随着 IBA 浓度的增加，生根率、平均根数和根长均呈现增加趋势，当 IBA 浓度为 1.0 mg/L 时，生根率最高，达到 98.61 %，平均根数最高为 5.31 条，平均根长为 0.81 cm（C_5根长与 C_3、C_4、C_6无显著差异），然而当 IBA 浓度超过 1.0 mg/L 时，其生根率、平均根数和根长呈下降趋势，这可能是较高浓度的 IBA 抑制了根的萌发作用；将经过 C_5培养基刺激且已生根的组培苗转入含 1/2 MS 液体培养基的珍珠岩基质中进行根系的增殖，结果显示，无菌苗在壮根培养基中生长旺盛，根的长度、数量明显增加，且有侧根增殖，14 d 后增殖形成庞大的根系（图 5），发达的根系有利于提高组培苗的移栽成活率。因此在本试验中，‘贵长’猕猴桃不定芽生根的最佳方法是：在 1/2 MS+1.0 mg/L IBA 固体培养基中刺激生根，然后再依次转入 1/2 MS 固体培养基及含有 1/2 MS 液体培养基的珍珠岩基质中进行根系的诱导及增殖，可以得到质量较高的根系。

选取经过根系增殖培养的组培苗 50 株进行移栽实验，采用逐渐打开瓶盖的方式炼苗，7 d 后取出组培苗，洗净其根系，移栽至装有珍珠岩和田间土壤（其比例为 1：4）的培养钵中，每天浇适量水，14 d 后统计成活率，观察结果显示，50 株组培苗成活 49 株，成活率达到 98 %，且生长良好（图 6）。

表 3　IBA 浓度对‘贵长’猕猴桃不定芽生根的影响

Table 3 Effects of IBA concentration on rooting of adventitious buds of ‘Gui chang’ Kiwifruit

培养基编号 Media No.	吲哚丁酸 IBA/mg^{-1}	接种不定芽数 No. of adventitious bud inoculated	生根不定芽数 No. of adventitious bud rooted	生根率/% Rate of rooting	平均根数/条 Average No. of root	平均根长/cm Average length of root
C_1	0	24	10.33±0.88e	43.06±3.67e	0.78±0.12d	0.44±0.08b
C_2	0.4	24	12.00±2.31de	50.00±9.62de	1.22±0.22d	0.51±0.05b
C_3	0.6	24	15.67±1.45cd	65.28±6.05cd	2.01±0.14c	0.85±0.01a
C_4	0.8	24	20.33±1.20ab	84.72±5.01ab	3.47±0.26b	0.86±0.01a
C_5	1.0	24	23.67±0.33a	98.61±1.39a	5.31±0.15a	0.81±0.01a
C_6	1.2	24	19.33±0.67bc	80.56±2.78bc	3.53±0.10b	0.76±0.02a

3 讨论

猕猴桃是果树研究者研究的一个热点植物，具有十分广阔的研究和应用前景，本研究对具有国家地理标志保护产品的‘贵长’猕猴桃[4]组织培养进行了研究，建立了其叶片高效直接再生体系。在已有的研究报道中，国内外研究者分别以茎段、叶片、叶柄等为研究对象[22-23]，对猕猴桃的组织培养进行了研究，然而，研究结果显示，大多数存在不定芽诱导周期长、再生率低及平均芽数少的问题，如中华猕猴桃的再生频率及有效芽分别为 90 % 和 4～8 个/愈伤组织[5]；美味猕猴桃的叶片愈伤组织诱导率只有 80 %[23]；红肉猕猴桃的不定芽分化率为 85.7 %[12]，平均芽数仅为 3.7[12]；狗枣猕猴桃 98 d 再生率仅为 68.7 %[24]；中华猕猴桃“伏牛 95-2”40 d 出芽率和出芽数分别为 87.5％和 4.2 个[21]；也有诱导率较高的报道，如葛枣猕猴桃的叶柄及茎段再生频率可达 100 %，平均芽数为 8～10/愈伤组织[22]，然而在该研究中使用了价格昂贵的玉米素，必然会增加组织培养的成本；进一步分析前人的研究，发现大多数研究者通过对外植体的诱导产生愈伤组织，再由愈伤组织分化不定芽，由此两步完成了不定芽的分化，这必然会导致分化周期加长，此外，在组织培养过程中，愈伤组织的诱导与愈伤组织分化不定芽所用的调节剂及其配比不完全一致[1; 23]，因此，组培材料在不同的培养基中进行继代转接就会有一定的适应期，这必然会增加外植体到不定芽的分化时间，同时也可能会影响不定芽的诱导率及新生芽的数目；在本研究中，叶片外植体在 MS+4.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA 培养基中经过 28 天的培养，就能够实现不定芽直接分化（图 2），分化率高达 95.8 %，平均不定芽数高达 15.7/叶片，大大缩短了外植体到不定芽的时间，提高了不定芽的分化率及单个外植体的不定芽数目；本研究建立的再生体系由于不经过愈伤组织培养阶段直接再生不定芽，在一定程度上降低了优良品种变异的几率，有利于优良品种的保持；本研究还用 6-BA 代替玉米素，与赵许朋等[17]的研究结果一致，在一定程度上降低了‘贵长’猕猴桃组织培养成本。

不定芽的增殖培养可以实现不定芽的大量繁殖，如严姜黎等[25]、刘长春等[6]和 Thomas et al.等[26]分别对红肉猕猴桃、金富猕猴桃和美味猕猴桃不定芽的增殖进行了研究，其增殖系数分别为 3.7、6.5 和 4.8；然而，在不定芽增殖研究过程中，研究者普遍对不定芽的第一代增殖系数进行了研究[5; 10; 26]，而极少对不定芽连续增殖代数[1]进行研究，本研究对‘贵长’猕猴桃不定芽 1～6 代增殖系数进行了研究，结果表明在 MS+3.0 mg/L 6-BA＋0.3 mg/L NAA＋0.2 mg/L GA_3 培养基中，‘贵长’猕猴桃不定芽稳定增殖，平均增殖系数达到 8.15

（图 4）。

不定芽生根培养是离体培养再生植株必不可少的一个环节，新生根的数量和质量直接影响着炼苗和移栽成活率[17]，前人研究结果显示，猕猴桃试管苗较容易诱导产生不定根，但是生根率相对较低，如 20 d 狗枣猕猴桃生根率为 62.5 %[24]，中华猕猴桃伏牛 95-2 生根率为 86.67 %[15]，中华猕猴桃红肉生根率为 81.8 %[25]；也有生根率较高的报道，如美味猕猴桃[23]和狗枣猕猴桃[24]根系再生率均为 100 %，但已有文献图片显示，所报道的再生根系不发达，如狗枣猕猴桃根系呈一侧产生，根系数量较少[24]，且很少有关于猕猴桃新生根系增殖方法的报道，不发达的根系可能会影响移栽成活率，本研究采用先用 1.0 mg/L IBA 对无菌苗进行诱导，然后再将其继代至 1/2 MS 固体培养基中进行生根，最后转入壮根培养基中进行新生根系增殖的方法，取得了良好的生根效果，经过根系增殖培养，无菌苗根的长度、数量明显增加，且伴有侧根的增殖，14 d 左右形成庞大的根系（图 5），选取 50 株带有庞大根系的无菌苗进行炼苗，并移栽至以珍珠岩和田间土壤（体积比为 1：4）为基质的营养钵中，移栽成活（图 6）率达到 98 %。

4 结论

在本研究中，叶片直接分化不定芽的最佳培养基为 MS+4.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA，不定芽分化率达 95.7 %，平均芽数为 15.7 个/叶片；在 MS+3.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA+0.2 mg/L GA_3 中，不定芽增殖率达到 100 %，1～6 代平均增殖系数为 8.15；不定芽在 1/2 MS+1.0 mg/L IBA 中诱导 7 d ，再先后继代至 1/2 MS 固体培养基和含 1/2 MS 液体培养基的珍珠岩中各培养 14 d，生根率高达 98.61 %，且其根系发育良好；50 株试管苗移栽至以珍珠岩和田间土壤（体积比为 1:4）为基质的营养钵中，2 周后成活 49 株，成活率达 98 %。本研究建立了‘贵长’猕猴桃叶片高效直接再生体系，解决了上文中提到的猕猴桃组织培养中存在的一些问题，为其离体快繁及抗病基因工程育种奠定基础。

参考文献

[1]赵许朋，周　月，杨　立，等.‘红阳’猕猴桃茎段高效再生体系的建立. 西南大学学报（自然科学版），2013，35（2）：6-10.

Zhao X P, Zhou Y, Yang L, et al. Establishment of a High Frequently Regeneration System from Stems segments of ‘Gui chang’ Kiwifruit(*Actinidia chinensis*) . Journal of Southwest University(Natural Sciences Edition), 2013, 35(2):6-10.

[2]蒲文江，满玉萍，雷 瑞，等. 猕猴桃观花品‘江山娇’与中华猕猴桃回交后代的性别分离与开花性状变异. 植物科学学报，2017，35（5）：723-734.

Pu W J, Man Y P, Lei R, et al. Variation in sex ratio and flowering traits in backcross hybrid populations between ornamental Jiangshanjiao and male *Actinidia chinensis* Planch. Plant scierce Journal, 2017, 35（5）: 723-734.

[3]金方伦，黎 明，韩成敏. ‘贵长’猕猴桃在黔北地区的生物学特性及丰产优质栽培技术. 贵州农业科学，2009，37（10）：175-177.

Jin F L, Li M, Han C M. Biological Characteristic of Guichang Chinese Gooseberry and Its Cultivation Technique with High Yield and Quality in Qianbei Areas. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2009, 37(10): 175-177.

[4]王金华，杜 超，梁 晨，等. ‘贵长’猕猴桃多糖提取工艺及体外抗氧化功能. 食品科学，2016，37（20）：19-23.

Wang J H, Du C, Liang C, et al. Extraction and Antioxidant Activity of Polysaccharides from Guichang Kiwifruit. Food Science, 2016, 37(20): 19-23.

[5]阳小成，王伯初，叶志义，等. 中华猕猴桃的组织培养及其实用快速繁殖. 重庆大学学报（自然科学版），2002，25（6）：75-77.

Yang X C, Wang B C, Ye Z Y, et al. Tissue Culture and Rapid Propagation of *Actinidia Chinensis*. Journal of Chongqing University (Natural Science edition), 2002， 25 (6): 75-77.

[6]刘长春，陈泽雄，龚雪芹，等. 金富猕猴桃离体培养与植株再生的优化研究.西南师范大学学报（自然科学版）. 2007，32（5）：124-128.

Liu C C, Chen Z X, Gong X Q, et al. Studies on Optimization of the Conditions for *in vitro* Culture and Plantlet Regeneration of *Actinidia chinensis* cv. JinFu. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science), 2007, 32(5）: 124-128.

[7]汪克强，周建峰，王晓兵. 红阳猕猴桃的栽培与管理. 陕西林业科技，2010，(5)：68-71.

Wang K Q, Zhou J F, Wang X B. Cultivation and Management of Red Sun Kiwifruit. Shaanxi Forest Science and Technology, 2010, (5): 68-71.

[8]刘占德，吕 岩. 猕猴桃生产中存在的几个问题. 西北园艺（果树），2011，（4）：5-6.

Liu Z D, Lv Y. Some problems in the production of kiwifruit. Northwest Horticulture(Fruit), 2011, (4): 5-6.

[9]安　婷，季　静，王昱蓉等. 百合鳞片的诱导分化及遗传转化效率分析. 中国生物工程杂志，2018, 38(1): 25-31

AN T, JI J, WANG Y R, et al. Analysis of the Transformation Efficiency and Induced Differentiation *Lilium brownii* of Scales. China Biotechnology, 2018, 38(1) : 25-31.

[10] 郑云凤，张晓曼，刘 晓. 欧报春上下胚轴再生体系的建立. 分子植物育种，2018，16（4）：1250-1256.

Zheng Y F, Zhang X M, Liu X. Establishment of Regeneration System of Epicotyls and Hypocotyls of Primrose (*Primula vulgaris*). Molecular Plant Breeding, 2018, 16（4）: 1250-1256.

[11] Sablok G， Budak H， Ralph P. Brachypodium Genomics: Methods and Protocols. State of New Jersey: Humana Press, 2017, 37-72.

[12]Yan Q, Melissa J, Karau, Kerryl E, et al. Comparison of Diagnostic Accuracy of Periprosthettic Tissue Culture in Blood Culture Bottles to That of Prosthesis Sonication Fluid Culture for Diagnosis of Prosthetic JointInfection (PJI) by Use of Bayesian Latent Class Modeling and IDSA PJI Criteria for Classification. Journal of Clinical Microbiology, 2018, 56（6）：1-11.

[13]BI J H, LIU Y L, Syed A. *In vitro* organogenesis and plant regeneration from leaf explants of *Actinidia latifolia*. Journal of Fruit Science(English Edition), 2005, 22 (4): 405-408.

[14] Abdin M Z, Kiran U, Kamaluddin, et al. Plant Biotechnology: Principles and Applications. Berlin: Springer, 2017, 289-310.

[15]胡选萍，秦公伟，曹小勇. 蓝莓组织培养技术的研究进展. 分子植物育种，2018，16（3）：960-965.

Hu X P, Qin G W, Cao X Y. Research Progress on Tissue Culture Technology of Blueberry. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(3）: 960-965.

[16]AN Alhasnawi. Tissue Culture Technician and in Vitro Screening of Rice (*Oryza sativa* L) Callus for Salt Tolerance. Journal of Global Pharma Technology, 2018, 11 (9) :67-74.

[17]赵许朋，罗克明，周　月，等. ‘红阳’猕猴桃叶盘高频直接再生体系的建立. 生物工程学报，2013，29（11）：1599-1606.

Zhao X P, Luo K M, Zhou Y, et al. Establishment of high frequency regeneration via leaf explants of 'Red Sun' kiwifruit (*Actinidia chinensis*) . Chinese Journal of Biotechnology, 2013, 29 (11) :1599-1606

[18]Ibrahim R, Debergh P C. Factors controlling high efficiency adventitious bud formation and plant regeneration from in vitro leaf explants of roses (Rosa hybrida L.). Scientia Horticulturae, 2001, 88(1): 41- 57.

[19]Akbaş F, Çiğdem Işikalan, Namli S. Callus Induction and Plant Regeneration from Different Explants of *Actinidia deliciosa*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2009, 158(2): 470-475.

[20]Kim M, Kim S C, Moon D Y, et al. Rapid Shoot Propagation from Micro-Cross Sections of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. 'Hayward') . Journal of Plant Biology, 2007, 50 (6): 681-686.

[21]尚霄丽，马春华，冯建灿. 中华猕猴桃叶片再生体系的建立. 江西农业学报，2010，22（4）：50-52.

Shang X L, Ma C H, Feng J C. Establishment of Regeneration System from Leaves of *Actinidia chinensis*. Acta Agriculturae Jingxi, 2010, 22 (4): 50-52.

[22]Takahashi W, Sugawara F, Yamamoto N, et al. Plant regeneration in *Actinidia polygama* Miq. by leaf, stem, and petiole culture with zeatin, and from stem-derived calli on low-sucrose medium. Journal of Forestry Research, 2004, 9(1): 85-88.

[23]Prado M J, Gonzalez M V, Romo S, et al. Adventitious plant regeneration on leaf explants from adult male kiwifruit and AFLP analysis of genetic variation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2007,88(1): 1-10.

[24]Lan D W, Liu Y L, Yuan T L. Organogenesis, somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf explants of *Actinidia kolomikta* cultured in vitro . Journal of Fruit Science(English Edition), 2007, 24(2): 218-222.

[25] 严姜黎，张　翼，邢　梅，等. 红肉猕猴桃离体快速繁殖技术研究. 华中农业大学学报，2008，27（1）：101-104.

Yan J L, Zhang Y, Xing M, et al. Studies on Rapid Micro-propagation Technique of *Actinidia chinensis* var. ruf opulpa. Journal of Huazhong Agricultural University, 2008, 27(1): 101-104.

[26]Thomas E S, Kortessa N D. Response to increasing rates of boron and NaCl on shoot proliferation and chemical composition of *in vitro* kiwifruit shoot cultures. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2004, 79(3): 285-289.



图 1～6 ‘贵长’猕猴桃叶片植株再生

1. 接种 2 周后的叶片
2. 不定芽分化（红色圆圈标注为叶片）
3. 不定芽光下培养（红色圆圈标注为叶片）
4. 不定芽增殖；
5. 增殖后形成的发达根系；
6. 移栽 2 周后的试管苗

Fig. 1～6 Plant regeneration from leaf of ‘Guichang’ kiwifruit

1. Leaves inoculated two weeks later
2. Adventitious buds directly regenerated from leaves（The red part is leaf）
3. Adventitious buds cultured in light（The red part is leaf）
4. Adventitious buds proliferated in one subculture;
5. Thick root system of Test Tube Plantlet;
6. Acclimatized plantlets after transplanting to matrix soil for two weeks.